

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

ANNÉE SCOLAIRE 1954-1955 — N° 3

Action de quelques Flavones sur l'intestin de Lapin

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 26 NOVEMBRE 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

GARNIER Jean

Né le 19 Mars 1928 à LYON (2^e)



IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
CAMILLE ANNEQUIN, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

1954

ACTION DE QUELQUES FLAVONES

SUR L'INTESTIN DE LAPIN

Directeur	M. JUNG.
Professeurs honoraires..	MM. BASSET. DOUVILLE.

Physique, Chimie et Toxicologie, Pharmacie.....	MM. TAPERNOUX.
Anatomie descriptive des animaux domestiques, Téra- tologie	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médi- cale	JUNG.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des viandes.....	LUCAM.
Parasitologie et maladies parasitaires, Zoologie appli- quée, Botanique, Clinique des maladies parasitaires et des maladies de la peau.....	EUZÉBY.
Pathologie médicale, Séméiologie et Propédeutique, Jurisprudence vétérinaire, Médecine légale, Clini- que médicale.....	BRION.
Pathologie chirurgicale, Séméiologie, Médecine opé- ratoire et ferrure, Clinique chirurgicale.....	COLLET.
Pathologie de la reproduction.....	CUNY.
Maladies microbiennes, Police sanitaire, Microbiologie et Pathologie générale, Clinique spéciale.....	GORET.
Zootéchnie et appréciation des animaux domestiques, Aliments du bétail, Agronomie et Hygiène des ani- maux. Economie rurale.....	JEAN-BLAIN.

MM. BARONE, Agrégé, FERRANDO, Agrégé, BERTRAND, Agrégé,
JOUBERT, MAGAT, BOST, COULON, FERNEY, FLACHAT

MM. REVOL, Président ; JUNG, FERRANDO, Assesseurs.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

Action de quelques Flavones sur l'intestin de Lapin

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 26 NOVEMBRE 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

GARNIER Jean

Né le 19 Mars 1928 à LYON (2^e)



IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
CAMILLE ANNEQUIN, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

1954



A MES PARENTS

Humble témoignage de gratitude pour tout
ce qu'ils ont fait pour moi.

A MON FRÈRE ET A SA FAMILLE

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PÈRES

A MES GRAND'MÈRES

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A Monsieur le Docteur Vétérinaire LEYDIER

Qui, en nous enseignant la pratique de notre
métier, nous apprit à le mieux aimer.

A Monsieur le Professeur REVOL
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse.
Hommage de gratitude.

A Monsieur le Professeur JUNG
Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui a bien voulu faire partie du Jury de notre Thèse.
Hommages respectueux.

A Monsieur l'Agrégé FERRANDO
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui nous a inspiré et guidé dans l'élaboration de ce travail.

Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A MES MAITRES DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE
DE LYON



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ACTION DE QUELQUES FLAVONES SUR L'INTESTIN DE LAPIN

CONSÉQUENCES POSSIBLES

- 1° Avant-propos.
 - 2° Introduction.
 - 3° Les flavones :
 - Introduction.
 - Définition. Nomenclature.
 - Constitution.
 - Localisation et distribution.
 - Origine et parenté chimique.
 - Rôle physiologique dans la plante.
 - Propriétés physiques et chimiques.
 - Actions pharmacologiques.
 - Isolement, préparation.
 - 4° Etude de quelques flavones.
 - 5° Les conséquences pratiques possibles.
 - 6° Conclusions générales.
-

AVANT-PROPOS

Nous ne saurions entreprendre l'exposé de notre étude sur l'activité des flavones sans exprimer ici notre reconnaissance à ceux sans qui nous n'aurions jamais pu mener à bien ce travail.

M. le Professeur Mentzer mit aimablement à notre disposition les flavones qui furent synthétisées dans son Laboratoire suivant une méthode qu'il préconisa. Il nous conseilla avec une bienveillance courtoise pour nos recherches bibliographiques. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

A M. l'Agrégé Ferrando qui nous proposa le sujet de notre thèse, nous guida tout au long de son élaboration et nous conseilla pour sa rédaction, nous adressons nos plus vifs remerciements pour l'accueil qu'il voulut bien nous réserver et l'aide qu'il nous prodigua.

M. l'Agrégé Bost nous initia aux techniques d'expérimentation au Laboratoire de Physiologie et de Thérapeutique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon ; nous lui devons d'avoir pu mener à bien nos différents essais. Qu'il en soit grandement remercié.

INTRODUCTION

La relation des travaux que W.S. Ferguson poursuit sur l'étiopathogénie de la météorisation des ruminants, attira notre attention sur le rôle que, dans ce phénomène morbide, pourraient jouer certains des composants chimiques des plantes fourragères : les flavones.

Cet auteur soumet l'iléon de lapin isolé à l'action de jus obtenus par extraction à partir d'herbages habituellement consommés par les herbivores domestiques. Il constate une action inhibitrice de certaines solutions et croit pouvoir reconnaître comme modificateur de la motricité une flavone qu'il identifie par la suite comme la 5-7-4' Trihydroxy 3'5' diméthoxyflavone ou tricine.

Par des techniques expérimentales analogues, nous nous sommes attachés à ce problème par le procédé inverse et avons directement utilisé des substances synthétiques pour nos expériences.

Avant d'exposer la technique et les résultats de notre étude, nous envisagerons la définition, la place dans la nomenclature, l'origine, les moyens d'obtention et les principales propriétés des flavones en général.

La seconde partie de notre travail sera plus spécialement consacrée à l'exposé de notre étude personnelle. Nous y envisagerons nos techniques d'expérimentation, les matériaux utilisés et les résultats obtenus.

A la lumière des travaux des différents auteurs et de nos propres observations, nous chercherons les conséquences possibles des faits constatés et nous terminerons en essayant de dégager les conclusions qu'il est, à l'heure actuelle, permis de tirer et qui sont peut-être susceptibles d'éclairer d'un jour nouveau certains processus de la pathologie digestive.

LES FLAVONES

Introduction.

Définition - Nomenclature.

Constitution.

Localisation et distribution.

Origine et parenté chimique.

Rôle physiologique dans la plante.

Propriétés, physiques et chimiques.

Actions pharmacologiques.

Isolement, préparation.

INTRODUCTION

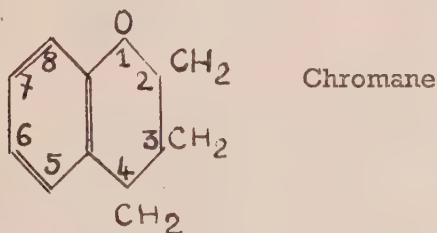
Le monde végétal qui nous entoure tire sa gamme de coloris de pigments variés : aux côtés de la chlorophylle et des caroténoïdes, les plus répandus sont les flavones et les anthocyanes qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs couleurs éclatantes. A l'intérêt que le botaniste et l'horticulteur portent à ces pigments vient s'ajouter aujourd'hui celui de l'hygiéniste et du vétérinaire.

« Le nom vulgaire de flavone s'est fait admettre dans le vocabulaire chimique pour désigner la phényl 2 chromone et les plus proches parents de celle-ci ont reçu des dénominations analogues qui dérivent de celle-là... » (1).

DÉFINITION - NOMENCLATURE

Les pigments flavoniques très communs dans la nature sont extrêmement répandus dans tous les organes végétaux et, malgré la diversité de leur coloration et de leur répartition botanique, ils appartiennent tous à une même famille chimique.

Ils dérivent, en effet, tous du **chromane** dont l'atome d'hydrogène en 2 est remplacé par un groupement phényle.



(1) Traité de Chimie organique, tome XVIII, publié sous la direction de V. GRIGNARD, G. DUPONT et P. BAUD.

La plupart de ces pigments sont des glucosides que l'on peut scinder par hydrolyse en oses et en un radical aglycone.

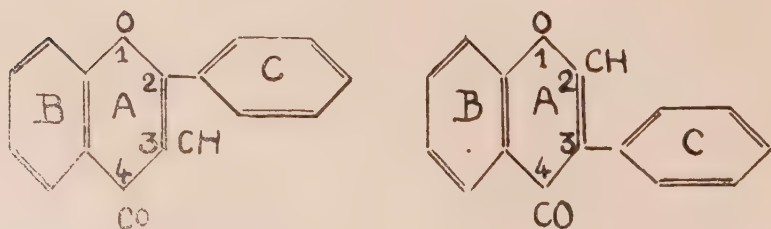
Ce radical aglycone comprenant un noyau phénolique devrait, conformément aux règles de la nomenclature de Genève, être caractérisé par une désinence en « ol » de même que les glucosides devraient l'être par la terminaison « oside ». Cependant ils conservent souvent leur dénomination en « ine », ce qui risque d'entraîner une certaine confusion.

CONSTITUTION

Les pigments flavoniques existent le plus souvent à l'état d'hétérosides parfois sous forme d'aglycones libres. C'est aux aglycones que nous nous intéressons plus particulièrement.

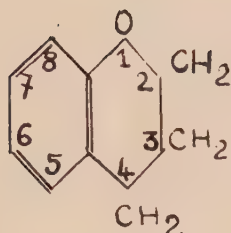
On établit la constitution d'un aglycone en étudiant l'action des alcalis à chaud suivant des procédés techniques dont la description dépasserait le cadre de notre travail.

Les aglycones flavoniques sont constitués par un noyau benzopyrone substitué en 2 ou 3 par un groupement phénolique.

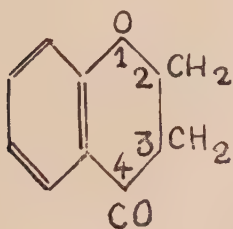


La substitution en 2 donne les dérivés flavoniques, celle en 3 les dérivés isoflavoniques.

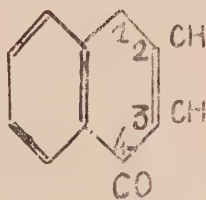
L'hydrogénation totale du noyau benzopyronique aboutit au chromane, substance-mère des pigments flavoniques.



La réduction du groupement A CH_2 situé en 4 donne la chromanone puis par déshydrogénation la chromone en entraînant l'apparition d'une double liaison.

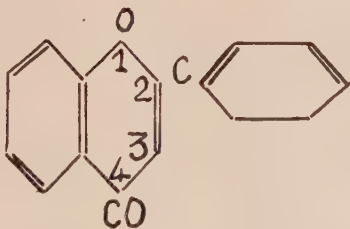


Chromanone



Chromone

La substitution d'un noyau phényl en 2 sur le noyau chromone aboutit aux **flavones**.



Phényl. 2. chromone ou flavone

Les dérivés flavoniques naturels ont toujours un ou plusieurs oxhydriles, soit sur le noyau B, soit sur le noyau C : ce sont les **hydroxyflavones**.

Un ou plusieurs des oxhydriles phénoliques peuvent être méthoxylés, tant sur les noyaux B et C que sur l'oxhydrile en 3 du noyau A.

LOCALISATION ET DISTRIBUTION

Les dérivés flavoniques sont en général dissous dans le suc cellulaire, mais si leur concentration est par trop élevée, des cristaux peuvent se séparer parfois, ou des combinaisons d'absorption s'établir avec les tanins et les protéines cellulaires.

Une matière pulvérulente qui recouvre les tiges, feuilles et capsules des graines de maintes espèces du genre *Primula*, est constituée par une flavone à peu près pure.

Histologiquement, la répartition des pigments flavoniques est assez variable et dépend d'un grand nombre de facteurs tels que l'âge et la variété de la plante, la saison et les altérations subies.

Les opinions des différents auteurs sur les localisations histologiques sont assez divergentes.

Les pigments flavoniques apparaissent non seulement dans la fleur, mais dans d'autres parties de la plante.

D'autre part, il est curieux de noter que des flavones existent dans le règne animal, provenant de la nourriture végétale absorbée par certains animaux (pigments des ailes de papillon).

ORIGINE ET PARENTÉ CHIMIQUE

Les pigments flavoniques entretiennent très vraisemblablement des relations, d'ordre génétique, étroites avec d'autres classes de composés, en particulier avec les anthocyanes et les tanins catéchiques.

La formation à partir des tanins fut une des premières hypothèses émises ; elle est basée sur l'existence dans le suc cellulaire de nombreux végétaux de substances incolores qui rougissent par oxydation et sur les analogies chimiques qui ont été établies entre les tanins catéchiques d'une part et le noyau des flavones et des anthocyanes d'autre part.

Des résultats positifs obtenus au laboratoire ne suffisent pas pour faire admettre une évolution semblable dans la plante.

Le problème de l'origine des anthocyanols a retenu l'attention des chercheurs et un grand nombre d'entre eux se sont attachés à démontrer que les anthocyanols dérivait des flavones, soit par oxygénation (Weldale Onslow (1911), Keelle et Coll (1912-1913), Jonesco (1922), Kolowski (1936), soit par réduction (Combes (1913), Keeble, Armstrong et Jones (1913), Chaze (1933), Sando et Coll (1935-1937), etc...).

Pour Robinson (1936), flavones et anthocyanols auraient une origine identique et à la base de leur formation, il faudrait considérer en première ligne des résidus d'hexoses.

Toutefois cette hypothèse n'a, pas plus que les autres, reçu de confirmation expérimentale.

Quels que soient les produits intermédiaires à partir desquels se fait la biogénèse des pigments à structure benzopyronique, celle-ci ne peut s'accomplir que grâce à des mécanismes fermentaires et ces phénomènes endocellulaires intimes de pigmentogénèse sont sous la dépendance de nombreux facteurs, tels que le métabolisme des substances constitutives du tissu végétal d'une part, les conditions externes (lumière, insolation, température, état hygrométrique, etc...) d'autre part.

D'ailleurs toutes ces formations restent sous la dépendance étroite de facteurs génétiques déterminés par le génotype.

Ainsi, malgré les nombreuses hypothèses auxquelles elle a donné naissance, l'origine des pigments est loin d'être définitivement éclaircie et ce sont peut-être les nouvelles techniques utilisant les isotopes qui éclaireront bientôt d'un jour nouveau un problème aussi délicat et aussi important.

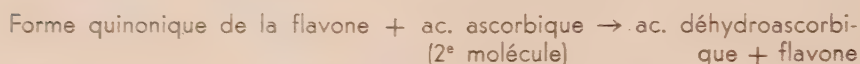
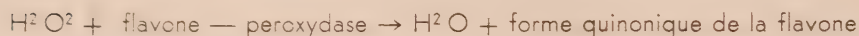
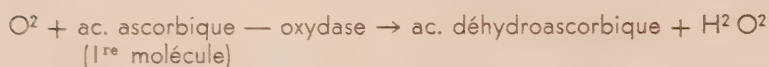
ROLE PHYSIOLOGIQUE DANS LA PLANTE

Quoique dans l'étude des pigments de la plante, la plupart des auteurs se soit surtout attachée aux anthocyanes, responsables des couleurs éclatantes des fleurs, certains travaux cependant ont plus particulièrement trait aux flavones et permettent d'entrevoir le rôle physiologique que ces pigments sont susceptibles

de jouer dans un organisme végétal. Szent Gorgyi mit en évidence l'intervention des flavones dans les réactions d'oxydoréduction cellulaires.

Dans les végétaux, les oxydations cellulaires s'accomplissent sous l'action d'un certain nombre de ferments agissant chacun dans une chaîne de réactions spécifiques. Une de ces principales chaînes est celle de la dégradation de l'acide ascorbique dans laquelle des oxydases de l'acide ascorbique et des peroxydases interviennent d'une part, des flavones remplissant d'autre part la fonction de transporteur d'oxygène.

Dans ces grandes lignes, le mécanisme proposé par Szent Gorgyi peut se résumer dans le schéma suivant :



Ainsi, une importante partie des oxydations végétales nécessiterait la présence des flavones.

Ces conceptions permettent d'ailleurs d'expliquer le rôle vitaminique probable des flavones dans les organismes animaux, c'est à une question que nous envisagerons dans un paragraphe ultérieur.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

La flavone et la flavanone sont incolores, tandis que leurs dérivés sont des substances plus ou moins jaunes.

Ces composés cristallisent facilement dans l'alcool.

Leur solubilité pour la plupart nulle dans l'eau froide, s'accroît en général avec une élévation de température.

Pour les purifier on les recristallise dans l'alcool éthylique ou méthylique, dans lesquels elles sont facilement solubles.

— Action des acides.

Stables avec les acides minéraux dilués, ces composés forment avec eux des produits d'addition cristallisés et décomposables par l'eau.

— Action des alcalis.

Grâce à leurs oxhydriles phénoliques, les composés flavoniques donnent, avec les alcalis, des dérivés solubles dans l'eau, d'où l'acidification peut à nouveau les précipiter.

La fusion alcaline produit une scission qui aboutit à un phénol et à un acide. Par ce procédé, on peut déterminer la position des groupes hydroxyles et par là établir la constitution moléculaire du corps.

— Action des réducteurs.

L'action in vitro de réducteurs tels que le magnésium et un acide, le trichlorure de titane ou d'autres substances, permettent d'obtenir des solutions dont les colorations vont du rouge au violet, colorations caractéristiques des aglycones des pigments des fleurs colorées en bleu, violet ou rouge : on est donc en présence d'anthocyanes.

Des réductions plus énergiques utilisant l'hydrogène et le platine permettent de dépasser le stade anthocyanol et d'obtenir par hydrogénation complète du noyau pyronique des catéchols.

— Action du perchlorure de fer.

En présence de perchlorure de fer, les colorants flavoniques prennent diverses colorations qui, sans être assez caractéristiques pour servir à leur identification, peuvent compléter diverses autres réactions plus spécifiques.

— Spectres d'absorption.

Les pigments flavoniques présentent, dans la partie ultra-violette du spectre, des caractéristiques spéciales qui ont fait l'objet de nombreux travaux et qui apparaissent comme extrêmement précieux pour préciser leur constitution.

ACTIONS PHARMACODYNAMIQUES

Malgré les travaux qu'elles ont suscités, les actions pharmacodynamiques des flavones ne nous sont connues que d'une façon peu étendue et assez imprécise.

Il semble cependant que les corps flavoniques entretiennent avec la vitamine P ou vitamine de perméabilité capillaire, des rapports de parenté assez étroits.

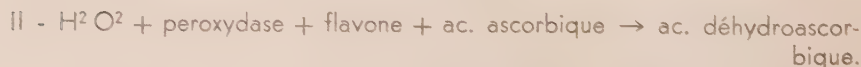
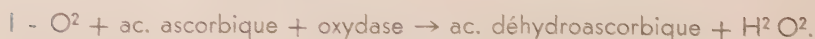
Szent Gorgyi étudia l'action des jus de certains fruits (paprika et citron) sur les symptômes vasculaires au cours des syndromes hémorragiques.

Lors du scorbut naturel ou expérimental, l'acide ascorbique (vitamine C) est insuffisant pour améliorer ces symptômes alors que les jus de citron et le paprika ont une grande efficacité.

Cherchant à isoler l'agent responsable de cette action, Szent Gorgyi cristallise une substance jaune qui présente certains caractères des dérivés flavoniques : la citrine ou vitamine P (vitamine de perméabilité).

Celle-ci s'avère par la suite composée d'un mélange de deux glucosides du groupe des substances flavoniques : l'une serait l'hesperidine l'autre l'eryodictyol, ces corps étant deux formes différentes de la flavanone des oranges et des citrons.

Nous avons vu plus haut le schéma proposé par Szent Gorgyi pour expliquer le rôle des flavones dans l'oxydation de l'acide ascorbique au sein de l'organisme végétal. Des travaux ultérieurs amenèrent cet auteur à en modifier la disposition.



Ce nouveau schéma montre le rôle de co-ferment que la flavone joue dans ce système fermentaire.

Dans l'organisme animal, les flavones auraient une action analogue et agiraient ainsi en synergie avec l'ac. ascorbique.

Zacko en 1939, a montré sur le cobaye scorbutique que la résistance capillaire diminuée n'était pas rétablie dans sa normale

par l'acide ascorbique seul, mais l'est avec les extraits préparés par Szent Gorgyi.

Rusznyack et Benko, en 1941, font disparaître des symptômes d'avitaminose P sur des rats scorbutiques par administration de citrine et de glucosides flavoniques.

Pour Lavollay (1940), le tonus des capillaires étant contrôlé par l'adrénaline qui s'oxyde très rapidement, les composés flavoniques s'opposant à cette auto-oxydation prolongeraient l'effet pharmacodynamique de l'adrénaline.

D'autre part, l'adjonction de certains dérivés hydroxyles flavoniques à une solution de Tyrode augmente la durée de l'action de l'adrénaline sur un intestin isolé de lapin.

Nous verrons ultérieurement tout l'intérêt que présenterait l'éclaircissement définitif de l'action réciproque de ces deux substances ; adrénaline et dérivés flavoniques ; et l'interprétation que l'on pourrait en obtenir pour expliquer certains processus de la pathologie digestive des herbivores.

A côté de sa parenté chimique avec la vitamine P les flavones nous sont connues comme diurétiques, stimulants cardiaques, vaso-constricteurs et hypertenseurs.

La toxicité des flavones, bien qu'assez mal établie, ne paraît pas importante.

Enfin, plusieurs auteurs se sont attaché à étudier l'action des flavones sur le muscle lisse. Dans les parties suivantes de notre travail, nous envisagerons en détail les résultats obtenus et les confronterons avec nos conclusions personnelles.

ISOLEMENT - PRÉPARATION

Les pigments étant le plus souvent des mélanges d'aglycone et de glucoside ou de plusieurs glucosides différents mais de constitution extrêmement proche, leur isolement est une opération extrêmement délicate.

Le plus souvent, on obtient les pigments flavoniques par l'emploi successif de divers solvants.

Il faut d'abord éliminer chlorophylle, huiles essentielles et tanins par un traitement à l'éther, un mélange alcool méthylique et éther ou le sulfure de carbone.

L'extrait alcoolique obtenu après enlèvement de la chlorophylle est soit traité à l'acétate de plomb, soit précipité par l'éther de pétrole.

On a utilisé aussi la méthode chromatographique en soumettant les solutions benzéniques des extraits de feuilles à divers absorbants : carbonate de soude, charbon activé, cendre de bois ou mieux magnésie et alumine activée.

Les flavones que nous avons utilisées pour nos expériences (1), sont préparées synthétiquement par une méthode générale de synthèse des dérivés flavoniques, préconisée par le Professeur Mentzer et consistant à condenser à haute température un di ou un polyphénol avec un ester aroylacétique suivant une technique qu'il n'est pas de notre ressort d'approfondir ici.

(1) Elles proviennent du laboratoire de chimie biologique de la Faculté des Sciences de Lyon (Professeur C. MENTZER).

ÉTUDE DE QUELQUES FLAVONES

Techniques d'expérimentation.

Flavones utilisées.

Etude de leur action ; résultats.

Conclusions.

Après ce bref exposé, au cours duquel nous avons essayé de situer les flavones, d'élucider leur rôle dans le monde végétal et d'en fixer les propriétés, nous entamons dans cette seconde partie l'étude que nous avons personnellement poursuivie pour déterminer l'action que certains de ces corps sont susceptibles de jouer sur la fibre musculaire lisse.

Pour ce faire, nous nous sommes livrés à des essais qui ont porté, pour la plupart, sur l'intestin isolé de lapin.

Avant d'exposer le résultat de nos expériences, nous envisageons d'une part les techniques mises en œuvre et, d'autre part, les matériaux dont nous avons cherché à apprécier l'action.

TECHNIQUES D'EXPÉRIMENTATION

Inspirés par les travaux de W.S. Ferguson, comme cet auteur, nous avons pour nos essais utilisé l'iléon de lapin *in vitro*. Toutefois, à deux reprises, nous avons tenté une observation par des procédés différents. Une fois, nous avons expérimenté sur l'intestin de lapin *in situ* ; une autre fois sur un fragment de rumen de mouton. Pour obtenir ce lambeau de rumen, nous avons prélevé celui-ci à l'abattoir immédiatement après la mort de l'animal, mais, malgré les précautions prises pour assurer une oxygénation et une température convenables à la solution de Tyrode qui nous servait pour le transport au laboratoire, la vitalité de ce fragment d'estomac était insuffisante pour nous donner des contractions dont on puisse apprécier les modifications.

Plus fructueuse fut l'expérimentation sur l'intestin de lapin *in situ*. Pour ce faire, on met en jeu la technique suivante : le lapin est anesthésié avec une solution méthyl-uréthane à 20 pour 100 administrée par voie intrapéritonéale à raison de 5 cc. par kilo de poids vif. Après laparotomie, on isole entre deux ligatures environ 10 centimètres d'iléon. Par l'extrémité orale, on introduit une sonde de caoutchouc sur laquelle l'intestin est ligaturé grâce à un raccord métallique.

C'est par cette sonde que sont injectées, dans la lumière intestinale, les substances à étudier. Une seconde sonde, fenêtrée, est introduite de la même façon par l'extrémité aborale. Elle est mise en relation avec un manomètre à eau dont la grande branche est reliée à un tambour de Marey très sensible. L'intestin et le manomètre sont alors remplis avec du liquide de Locke à 38° C. Bien que séduisante dans son principe, cette technique reste assez imparfaite et l'interprétation des résultats demeure assez délicate surtout si l'on considère que, comme l'ont montré H. Le Bars, R. Nătescu et H. Simonnet, l'anesthésie constitue un important facteur de perturbation dans la motricité du tube digestif.

La technique d'étude de l'action pharmacodynamique d'une substance sur l'intestin isolé est trop connue pour faire l'objet d'une description détaillée. Nous enregistrons les contractions d'un fragment d'iléon qui baigne dans un bain de solution de Tyrode, maintenu à une température constante de 39° C. et régulièrement oxygéné. Par l'intermédiaire d'un levier, les contractions s'inscrivent sur un rouleau inscripteur. La substance dont on veut étudier l'action est ajoutée progressivement au bain de Tyrode ; connaissant la contenance du bac, il est aisé d'obtenir des concentrations déterminées.

FLAVONES UTILISÉES

Nos essais ont porté sur six composés flavoniques, tous obtenus par synthèse.

Ce sont :

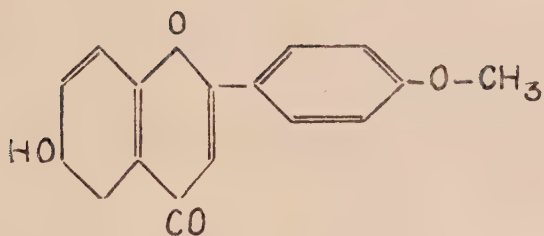
— La 7 hydroxy 4' méthoxyflavone ou Pratol.

Formule brute : $C^{16} H^{12} O^4$.

Poids moléculaire : 268.

Aiguilles jaunes pâles ou incolores.

Existe à l'état naturel dans les feuilles de *Trifolium pratense*, variété incarnata et autres.



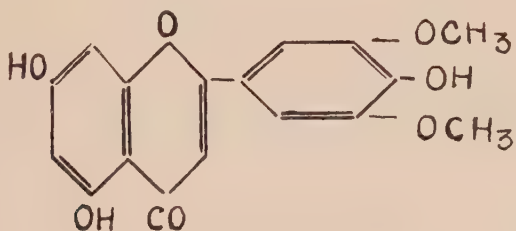
— La trihydroxy 5-7-4' diméthoxy 3'5' flavone ou tricine.

Formule brute : $C^{17} H^{14} O^7$.

Poids moléculaire : 330.

Aiguilles jaune clair.

Existe à l'état naturel dans les feuilles de blé de Khapli, de *Triticum dicoccum* et de plusieurs plantes fourragères.



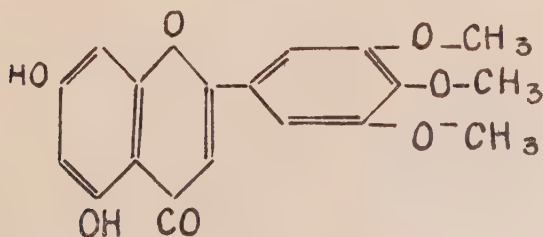
— La dihydroxy 5-7 triméthoxy 3'4'5' flavone ou méthyltricine.

Formule brute : $C^{18} H^{16} O^7$.

Poids moléculaire : 344.

Belles aiguilles soyeuses jaune citron.

N'est pas connue à l'état naturel.



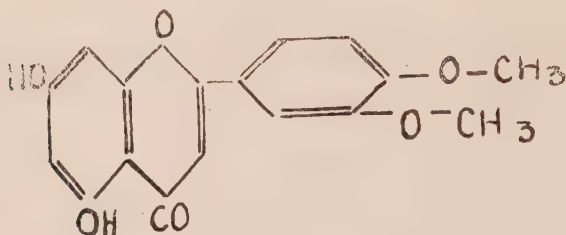
— La dihydroxy 5-7 diméthoxy 3'4' flavone.

Formule brute : $C^{17} H^{14} O^6$.

Poids moléculaire : 314.

Cristaux jaunes ternes légèrement ocres.

N'est pas connue à l'état naturel.



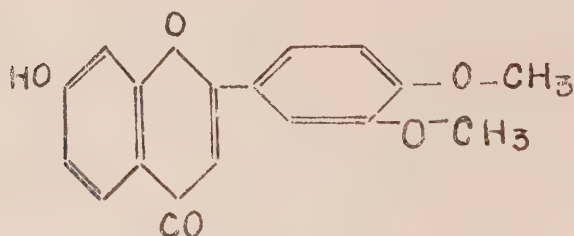
— L'hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone.

Formule brute : $C^{17} H^{15} O^5$.

Poids moléculaire : 298.

Cristaux rouge sang séché à reflets brillants rappelant l'aventurine.

N'est pas connue à l'état naturel.



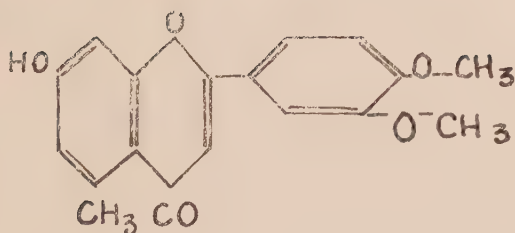
— La méthyl 5 hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone.

Formule brute : $C^{18} H^{16} O^5$.

Poids moléculaire : 312.

Poudre saumon terne.

N'est pas connue à l'état naturel.



Tous ces composés furent dissous dans une solution de soude N/10 à raison de :

1	molécule de soude pour	1	de pratol
3	—	—	1 de tricine
2	—	—	1 de méthyltricine
2	—	—	1 de dihydroxy 5-7 diméthoxy 3'4' flavone
1	—	—	1 d'hydroxy 2 diméthoxy 3'4' flavone
1	—	—	1 de méthyl 5 hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone.

Préalablement à tout essai, nous avons examiné l'action de la soude N/10 sur l'intestin afin de savoir si une action possible d'icelle ne risquait pas de fausser l'interprétation des résultats ultérieurs. Aux doses utilisées, cette action est absolument nulle.

Le fait que la méthyltricine soit un analogue structural de la tricine et n'en diffère que par la substitution d'un groupement méthoxyle à un groupement hydroxyle nous avait suggéré la possibilité d'un antagonisme entre ces deux substances. Celui-ci s'étant avéré, dans certaines conditions, partiellement réel, nous avons cherché à savoir dans la plupart des cas si cette action inverse de la méthyltricine était susceptible de s'opposer à l'action des flavones étudiées, autres que la tricine.

Etude de l'action de la méthyltricine sur l'intestin isolé dans du liquide de Tyrode à 39° C.

Nous utilisons des concentrations de méthyltricine allant de 4×10^{-6} à 40×10^{-6} sans enregistrer aucune action, ni sur le rythme des contractions, ni sur leur amplitude, ni sur le tonus de base.

Etude de l'action de la tricine sur l'intestin isolé dans du liquide de Tyrode à 39° C.

La tricine commence à abaisser le tonus de base de l'iléon à la concentration 16×10^{-6} . Cette action se renforce singulièrement quand on arrive à une concentration de 20×10^{-6} et le tonus de base continue à s'abaisser considérablement. L'amplitude des contractions diminue fortement et les mouvements s'éteignent peu à peu pour cesser presque entièrement au bout de onze minutes.

Sur un fragment neuf d'intestin, l'action de la tricine utilisée d'emblée à la concentration de 20×10^{-6} est brutale. En l'espace de quatre minutes, elle paralyse presque complètement tous les mouvements. Tout au plus enregistre-t-on de faibles ondulations toniques.

Etude de l'action simultanée de la méthyltricine et de la tricine sur l'intestin isolé dans du liquide de Tyrode à 39° C.

Sur l'intestin inhibé par la tricine à la concentration de 20×10^{-6} , des doses doubles de méthyltricine ne réveillent pas l'activité des mouvements pendulaires.

Si, au contraire, l'adjonction au bain de Tyrode de méthyltricine à la dose de 16×10^{-6} précède celle de tricine, cette dernière commence à abaisser le tonus de base aux concentrations de 16 puis de 20×10^{-6} sans toutefois provoquer l'inhibition brutale observée quand on l'utilise seule. Cette inhibition n'apparaît même pas aux doses de 24×10^{-6} .

ACTION DE LA TRICINE

I) Augmentation progressive de la concentration.

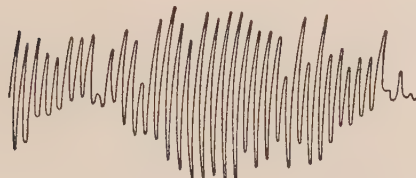


Fig. 1.

A) Avant tout essai pharmacodynamique (fig. 1).

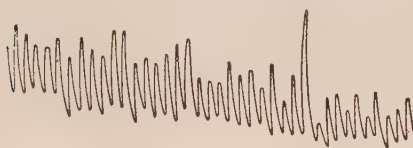
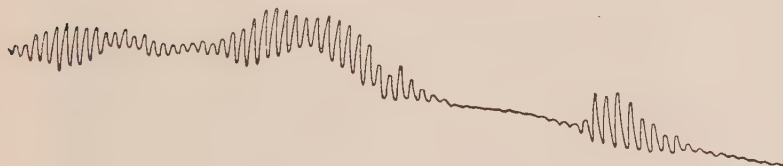


Fig. 2.

B) 5 minutes après avoir atteint la concentration de 20×10^{-6} (fig. 2).



↑ ↑ Tricine 5mg

Fig. 3.

II) Action d'une dose massive de Tricine (concentration 20×10^{-6}) (fig. 3).

ACTION du PRATOL



Fig. 4.

I) Avant tout essai pharmacodynamique (fig. 4).

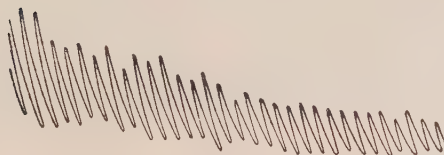


Fig. 5.

2) Pratol : concentration de 28×10^{-6} (fig. 5).

Etude de l'action simultanée de la méthyltricine et de la tricine sur l'intestin in situ.

L'action de la tricine à la dose de 4 mgr. introduits directement dans la lumière intestinale provoque un ralentissement des mouvements péristaltiques. Au moment où ce ralentissement paraît très marqué, l'adjonction de 4 mgr. de méthyltricine, également introduits dans la lumière intestinale, semble réveiller le péristaltisme. Ceci confirmerait dans une certaine mesure les résultats précédents si l'impossibilité d'autres essais par manque de produits, la délicatesse de l'expérimentation et la sensibilité de l'intestin aux moindres modifications de pression ne nous obligeaient pas à une grande circonspection dans l'interprétation des résultats.

Etude de l'action du pratol sur l'intestin isolé dans du liquide de Tyrode à 39° C.

L'action du pratol est beaucoup moins violente que celle de la tricine. Si à partir de 16×10^{-6} on constate un abaissement du tonus de base, l'amplitude ne commence à décroître nettement qu'à partir d'une concentration de 24×10^{-6} .

Etude de l'action de la déhydroxy 5-7 diméthoxy 3'4' flavone sur l'intestin isolé dans du liquide de Tyrode à 39° C.

La flavone est ajoutée au bain de Tyrode par doses progressives allant jusqu'à une concentration de 93×10^{-6} ; à la concentration 31×10^{-6} alors que l'amplitude des contractions reste inchangée, le rythme est légèrement ralenti, cette action s'accroît lorsque la concentration s'élève à 62×10^{-6} et ce n'est que lorsqu'elle atteint 93×10^{-6} que l'amplitude commence à décroître et que les oscillations deviennent presque imperceptibles pour aboutir à un arrêt quasi-total de toute contraction.

L'adjonction au bain de trois doses successives et égales de méthyltricine jusqu'à obtention d'une concentration de 18×10^{-6} ne provoque que de légers accidents du tonus de base sans reprise des contractions.

Un essai sur un nouveau fragment d'iléon donne un graphique difficile à interpréter en raison de la faiblesse des contractions qui donnent une mauvaise inscription. Toutefois l'action de la

PREMIER ESSAI

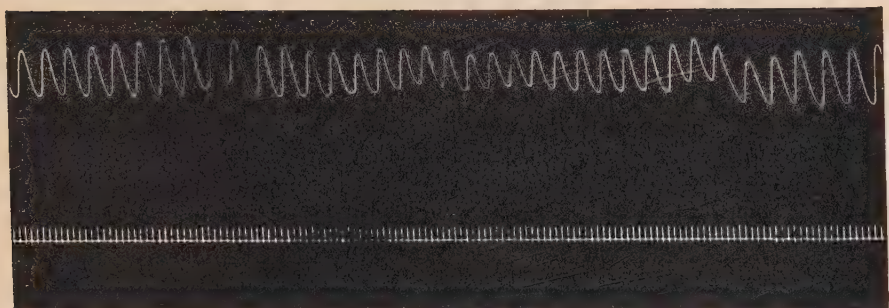


Fig. 1.
Avant tout essai pharmacodynamique

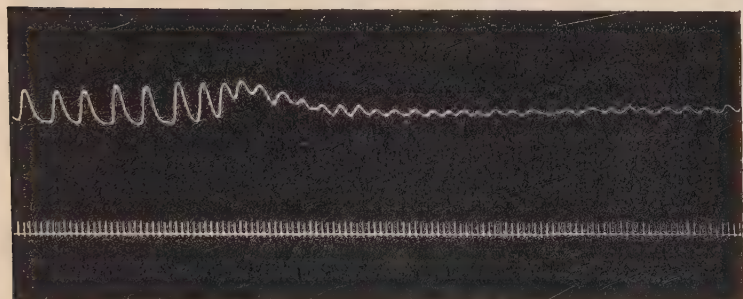


Fig. 2.
Après avoir atteint une concentration de 93×10^{-6}



Fig. 3.
Après apport de trois doses successives de méthyltricine aboutissant à une concentration de 18×10^{-6}

DEUXIÈME ESSAI

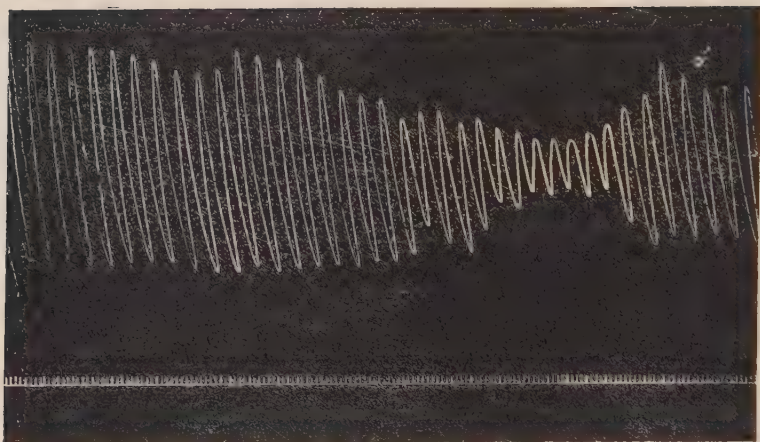


Fig. 4.
Avant tout essai pharmacodynamique

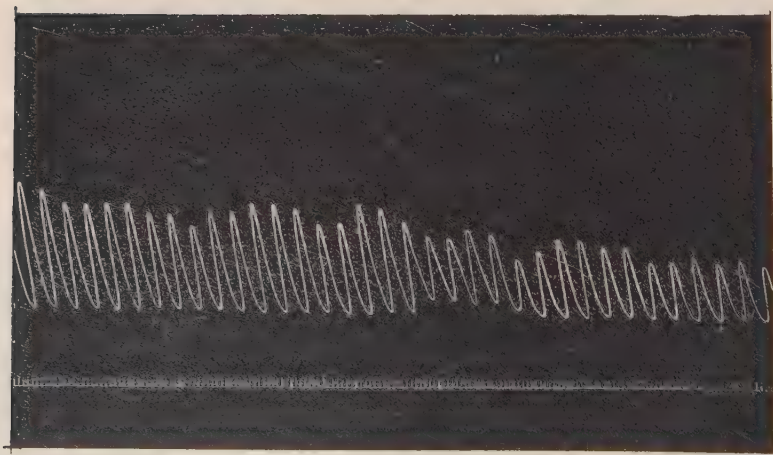


Fig. 5.
Après avoir atteint une concentration de 62×10^{-6}

déhydroxy 5-7 diméthoxy 3'4' flavone ne semble appréciable qu'à partir d'une concentration de 62×10^{-6} .

Etude de l'action de l'hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone sur l'intestin isolé dans un liquide de Tyrode à 39° C.

Des concentrations de l'ordre de 50×10^{-7} sont absolument sans action, augmentées jusqu'à 50×10^{-6} elles restent sans action aussi bien sur le rythme et l'amplitude que sur le tonus de base. Un apport extrêmement massif de flavone reste inopérant.

Etude de l'action de la méthyl 5 hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone sur l'intestin isolé dans du liquide de Tyrode à 39° C.

Des doses progressives de flavone n'apportent des modifications appréciables de l'allure de la courbe que lorsque des concentrations élevées sont atteintes ; à 30×10^{-5} on observe une légère diminution du tonus et ce n'est qu'à 55×10^{-5} que s'amorce un ralentissement du rythme et une chute de l'amplitude des contractions.

Un apport de méthyltricine aboutissant à une concentration en ce corps de 186×10^{-6} est incapable de rendre sa vitalité à l'iléon soumis à l'action de la méthyl 5 hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone.

En résumé, la tricine paraît très active sur l'intestin de lapin isolé et in situ à des doses faibles (20×10^{-6} sur l'intestin isolé), le pratol exerce une action importante quoique moins brutale à une dose de 24×10^{-6} .

La dihydroxy 5-7 diméthoxy 3'4' flavone et la méthyl 5 hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone ne manifeste une action appréciable qu'à des concentrations beaucoup plus élevées, respectivement de 93×10^{-6} et 55×10^{-6} .

Quant à l'hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone, elle ne semble posséder aucune action d'inhibition du péristaltisme, même à des concentrations très importantes.

La méthyltricine paraît douée, à l'égard de son analogue structural, d'un certain antagonisme qui ne se manifeste que si elle est introduite dans le bain préalablement à la tricine.

PREMIER ESSAI

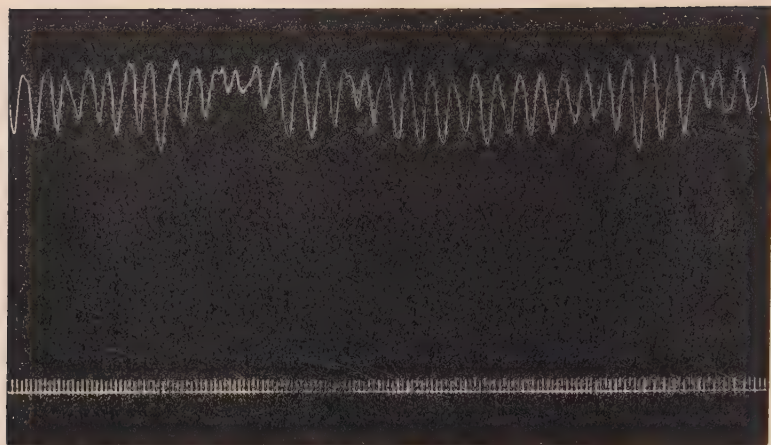


Fig. 6. — Avant tout essai pharmacodynamique.

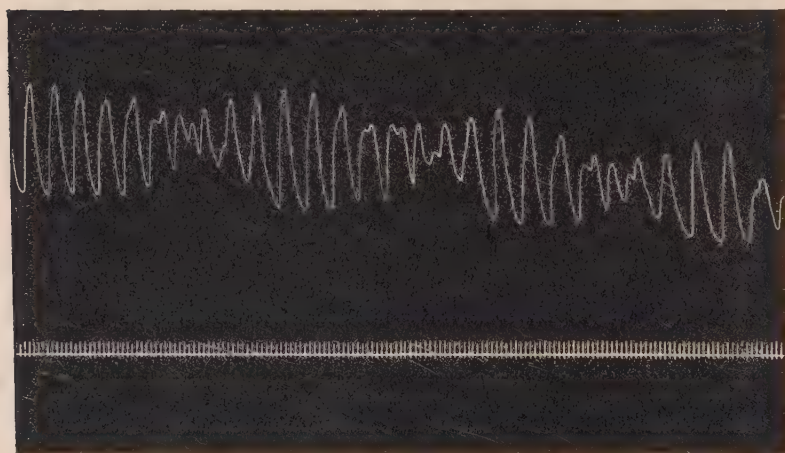


Fig. 7. — Après avoir atteint une concentration de 30×10^{-5} .

DEUXIÈME ESSAI

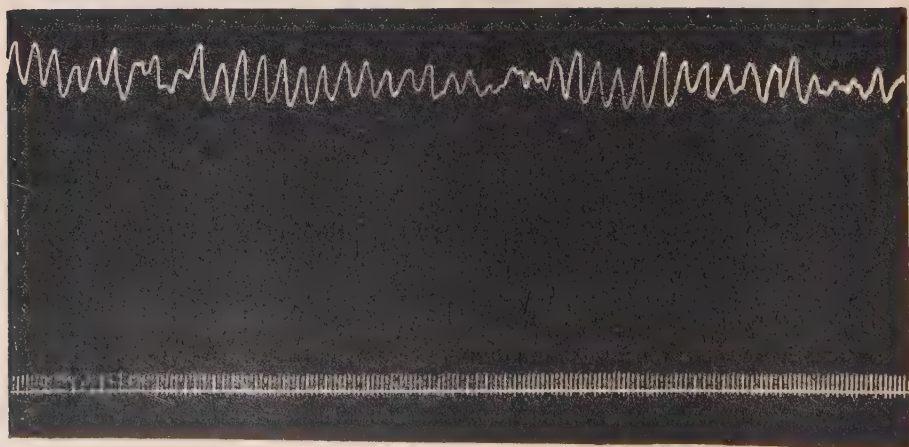


Fig. 8. — Avant tout essai pharmacodynamique.

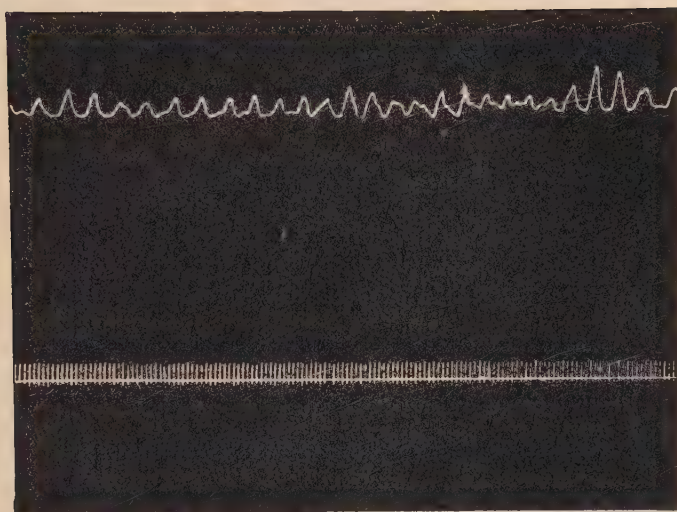


Fig. 9.

Après avoir atteint une concentration de 55×10^{-5}

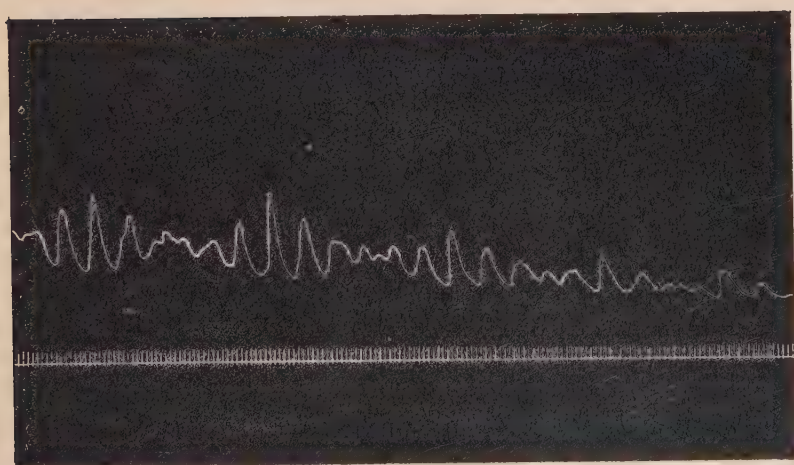


Fig. 10.

Après un apport d'une dose massive de méthyltricine aboutissant à une concentration de 186×10^{-6}

LES CONSÉQUENCES PRATIQUES POSSIBLES

LES CONSÉQUENCES PRATIQUES POSSIBLES

De ces résultats expérimentaux, peut-on dégager quelques considérations pratiques ?

Initialement, W.S. Ferguson s'était attaché à expliquer la pathogénie de la tympanite des bovins et, pour ce faire, étudia d'abord des jus naturels extraits des légumineuses et autres herbes constituant l'alimentation normale des ruminants domestiques.

Cet auteur remarque le pouvoir inhibiteur de l'extrait de trèfle sur la fibre lisse de l'intestin isolé de lapin. Après différentes opérations d'isolement et de purification, il obtient une substance cristalline jaune pâle qui inhibe considérablement l'activité musculaire. L'étude physique et chimique montre qu'il s'agit d'une flavone, la 3'4'5' trihydroxy 7 méthoxy flavone, semble-t-il.

Ultérieurement, cette substance est définitivement identifiée, on était bien en présence d'une flavone mais c'était, comme l'ont montré des travaux postérieurs effectués sur de plus larges quantités de flavone purifiées par sublimation sous le vide poussé, la tricine, 5-7'-4' trihydroxy 3'5' diméthoxy flavone, flavone que l'on trouva à l'origine dans le *Triticum dicoccum*.

W.S. Ferguson expérimente sur le muscle isolé avec trente-quatre composés flavanoïdes et observe que tous ont une action à des concentrations faibles de l'ordre du $1/200.000^e$ au $1/50.000^e$.

Personnellement, nous nous sommes directement adressés à des composés synthétiques et nous avons, suivant les corps utilisés, observé des résultats variables.

La tricine et le pratol, corps qui, à l'état naturel, existent dans différentes variétés de luzerne et de trèfle, inhibent l'activité musculaire à des doses très faibles (20×10^{-6} pour celle-là et 24×10^{-6} pour celui-ci).

La méthyltricine semble posséder un certain antagonisme à l'égard de son analogue structural, la tricine. Toutefois celui-ci ne se manifeste que si l'action de la méthyltricine précède celle de la tricine.

L'action des trois autres flavones que nous avons étudiées, la dihydroxy 5-7 diméthoxy 3'4' flavone, l'hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone et la méthyl 5 hydroxy 7 diméthoxy 3'4' flavone n'est ni très nette, ni très importante.

Ainsi, il est donc certain que plusieurs dérivés flavoniques sont capables d'inhiber fortement et à de faibles concentrations in vitro la fibre lisse intestinale de lapin. Aussi semble-t-il permis sans audace de penser qu'une action similaire s'exerce sur la fibre des réservoirs digestifs des ruminants. Il est évidemment regrettable que les moyens expérimentaux dont nous disposions ne nous eussent pas permis de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse sur la paroi gastrique de bovin. Vérifiée, cette conception pourrait éclairer d'un jour nouveau la pathogénie de la météorisation.

Pour expliquer ce processus morbide, on a longtemps invoqué les seuls phénomènes de fermentation des aliments ingérés. Comment alors expliquer l'absence quasi-totale d'évacuation des gaz accumulés si la paroi gastrique conserve toute sa motilité. On se plaisait à reconnaître que les légumineuses favorisaient l'apparition du météorisme, alors que relativement pauvres en glucides ces plantes n'ont pas de possibilités plus grandes de fermentation que les autres, les graminées par exemple, souvent plus riches en composés ternaires.

Il est de connaissance courante que le fait de laisser en tas le trèfle et la luzerne avant la distribution aux animaux entamerait la fermentation qui se poursuivrait au sein des réservoirs digestifs. Or, au cours de ces modifications chimiques, sous diverses actions fermentaires, ne se produirait-il pas une lyse de la cellule végétale avec libération partielle de corps flavoniques; libération parachevée ultérieurement par le jeu des sucs digestifs ?

Vraisemblablement, comme dans tout phénomène biologique, l'origine de la tympanite n'est pas une et tout simple mais, au contraire, multiple et complexe et il est très probable que plusieurs facteurs entrent en jeu. Ne serait-il pas, par exemple, possible d'envisager le mécanisme suivant ?

Les corps flavoniques libérés provoquent une atonie de la panse ; sous des actions fermentaires complexes (sucs digestifs, micro-organismes, variations du pH), le contenu gastrique libère des gaz qui, non évacués par les mouvements gastriques, s'accumulent dans le rumen et les cellules végétales détruites par ces fermentations libèrent des composés flavoniques qui, augmentant la paralysie de la fibre lisse, accroissent la gravité du processus.

Notons que ce sont justement les flavones existant à l'état naturel dans les légumineuses couramment absorbées par le bétail, pratol dans le *trifolium pratense*, variété *incarnata*, tricine dans différentes plantes qui sont les plus actives et provoquent la plus forte inhibition du péristaltisme intestinal.

Dans un chapitre antérieur, nous avons vu l'action réciproque qui existe entre flavones et adrénaline ; l'éclaircissement définitif de ce phénomène permettra sans doute de donner une explication rationnelle de l'action des composés flavoniques sur la fibre lisse.

Il est toutefois intéressant de noter avec W.S. Ferguson que l'adjonction de petites quantités d'adrénaline au muscle préalablement soumis à l'extrait de trèfle pouvait amener une résolution rapide. Ceci expliquerait le mode d'action de l'adrénaline qu'à l'heure actuelle de nombreux praticiens tendent à utiliser de plus en plus dans les cas de météorisation aiguë.

Si un certain nombre d'auteurs ont cru pouvoir attribuer aux flavones un rôle actif dans la pathogénie des indigestions des polygastriques, il nous paraîtrait personnellement utile d'étudier l'action de ces mêmes corps sur l'intestin de cheval. On sait, en effet, combien l'organisme des Equidés, dominé par un système neuro-végétatif bien particulier, répond de façon originale aux perturbations d'origine extérieure.

H. Simonnet, H. Le Bars, W. Stassive et Fr. Chapeville ont montré combien les agents actifs sur la motricité de l'intestin pouvaient avoir une action variable suivant l'espèce à laquelle on s'adresse et les conditions d'expérimentation (*in vivo* ou *in vitro*).

D'autre part, ces mêmes auteurs ont bien démontré que certains extraits de plantes fourragères (trèfle, luzerne), qui étaient sans action sur le duodénum de bovin et qui inhibaient la motricité de l'intestin de lapin et de porc, exaltaient au contraire celle de l'intestin des Equidés.

Ainsi, si la fibre musculaire du cheval répond de façon opposée à celle du lapin à un apport d'adrénaline ou d'autres substances, on peut penser qu'il en serait de même vis-à-vis des flavones.

Par là, nous avons voulu évoquer simplement l'action possible des pigments flavoniques dans une exacerbation du péristaltisme et suggéré l'idée d'une intervention possible de ces corps dans l'étiologie des coliques.

Une certitude nous est d'ailleurs apportée par ces auteurs qui démontrent qu'in vitro les extraits de luzerne et de trèfle sont contracturants. Il reste à démontrer que le responsable de cette action est bien une flavone.

Un autre point qu'il nous semblerait intéressant d'éclaircir est l'activité possible des flavones sur la fibre lisse de l'utérus, activité à laquelle certains avortements après des cas de météorisation des vaches font penser.

Enfin, tous les essais ou presque ont été exécutés in vitro, mais on peut penser que les différents principes actifs, après avoir agi localement sur la musculature intestinale après ingestion, agissent après absorption et passage dans la circulation générale.

L'action légèrement antagoniste de la méthyltricine semble trop imparfaite et s'exerce dans des conditions trop particulières pour imaginer une application thérapeutique de cette propriété.

En définitive, si l'on évoque les autres propriétés pharmacodynamiques des flavones, on constate que ces corps qui, il y a quelques années encore, n'intéressaient que quelques spécialistes de la physiologie végétale, gagnent à l'heure actuelle un terrain de plus en plus vaste et que dans l'avenir on leur découvrira peut-être des rôles extrêmement importants dans la physiologie et la pathologie animale.

CONCLUSIONS

Les travaux de différents auteurs ont attiré l'attention sur l'activité pharmacodynamique de certains colorants des plantes, les flavones, sur la fibre lisse intestinale.

Ces corps, qui sont des hétérosides hétérocycliques sont extrêmement répandus dans le monde végétal.

Certains d'entre eux ont pu être synthétisés. C'est à ceux-ci que nous nous sommes adressés.

Parmi les différents corps étudiés, certains montrent, sur la motricité intestinale, une action d'inhibition très nette ; d'autres ont une action très faible et à des doses extrêmement élevées.

Un composé voisin des corps actifs qui par sa constitution chimique permettait de présumer un certain antagonisme, s'est avéré inopérant quand il est utilisé après les substances paralysantes. Au contraire, employé auparavant il protège la fibre musculaire lisse contre l'action de ces substances.

Bien que les essais aient presque tous été pratiqués sur l'iléon de lapin, il semble possible, en s'appuyant sur des travaux antérieurs, d'accorder à certains de ces corps un rôle dans l'étiopathogénie de la météorisation des Ruminants.

Il serait pourtant intéressant d'étudier l'action de ces corps *in vivo* tant sur les Ruminants que sur les Solipèdes pour rechercher si on ne peut pas leur reconnaître une certaine responsabilité dans les coliques et les processus de météorisation.

En résumé, par leur action pharmacodynamique, ces corps sont susceptibles d'intéresser de multiples chapitres de la pathogénie animale.

Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon,
L. JUNG.

Le Professeur
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon,
L. JUNG.

Vu :
Le Doyen,
H. HERMANN.

Le Président de la Thèse :
REVOL.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 22 Novembre 1954.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,
André ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

- Traité de Chimie organique, tome XVIII, publié sous la direction de Y. GRIGNARD, G. DUPONT et P. BAUD.
- FERGUSON (W.-S.), de ASWORTH (B.) et TERRY (R.A.). — *Nature*, 1949; **163** ; 606.
- *Nature*, 1950 ; **166** ; 116.
- FERGUSON (W.-S.). — A factor in pastures affecting muscle activity. *Grasland Conference Handbook*, 1948.
- *Nature*, 1948 ; **161** ; 816.
- MENTZER et PILLON. — *C. R. Acad. Sc.*, 1952 ; **234** ; 444.
- *Bull. Soc. Ch. France*, 1953, sous presse.
- MENTZER (Ch.), FERRANDO (R.), BOST (J.), PILLON (D.), GARNIER (J.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1953 ; **35** ; 501.
- SANNIE (Ch.) et SAUVAIN (H.). — Les couleurs des fleurs et des fruits. Anthocyanes et flavones. *Mémoires du Muséum National d'Histoire naturelle. Nouvelle série. Série B. Tome II*.
- COMBES (R.). — La vie de la cellule végétale. Coll. Albin Fayard.
- LIEGEOIS. — *Traité de pathologie des animaux domestiques*.
- LE BARS (H.), NITESCU (H.) et SIMONNET (H.). — Recherches sur la motricité du rumen chez les petits Ruminants. Motricité normale. *Bull. Ac. Vét.*, 1953 ; **26** ; 287.
- Recherches sur la motricité du rumen chez les petits Ruminants. Action de l'adrénaline. *Bull. Acad. Vét.*, 1953 ; **26** ; 445.
- SIMONNET (H.), LE BARS (H.), STASSIVE et CHAPEVILLE (Fr.). — Pharmacologie de l'intestin du cheval. Action de l'adrénaline sur la motricité du duodénum de cheval in vivo. *Bull. Acad. Vét.*, 1952 ; **25** ; 75.
- SIMONNET (H.), LE BARS (H.) et CHAPEVILLE (Fr.). — Pharmacologie de l'intestin du cheval. Action de quelques extraits végétaux sur la motricité du duodénum. *Bull. Acad. Vét.*, 1952 ; **25** ; 221.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	11
INTRODUCTION	13
LES FLAVONES.....	15
Introduction	17
Définition - Nomenclature.....	17
Constitution	18
Localisation et distribution.....	20
Origine et parenté chimique.....	20
Rôle physiologique dans la plante.....	21
Propriétés physiques et chimiques.....	22
Actions pharmacodynamiques	24
Isolement - Préparation	25
ÉTUDES DE QUELQUES FLAVONES.....	27
Technique d'expérimentation	29
Flavones utilisées.....	30
LES CONSÉQUENCES PRATIQUES POSSIBLES.....	45
CONCLUSIONS	49
BIBLIOGRAPHIE	51
